

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-133297

(43)Date of publication of application : 12.05.2000

(51)Int.Cl.

H01M 8/16
// C12N 1/00

(21)Application number : 10-310799

(71)Applicant : CANON INC

(22)Date of filing : 30.10.1998

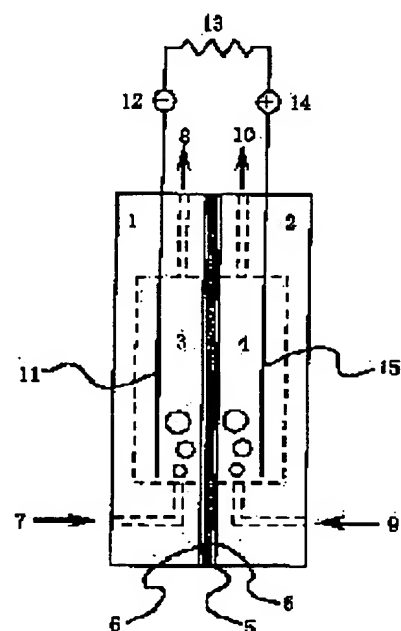
(72)Inventor : KAWABATA YUJI

(54) BIO METABOLISM-UTILIZING POWER GENERATING METHOD AND BATTERY, AND ELECTRONIC MEDIATOR IMMOBILIZING ELECTRODE USING THEM

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To reduce power generation cost and enhance power generation efficiency by immobilizing an electronic mediator which mediates electron transfer between microorganisms or cells and electrodes to the surface of the electrode.

SOLUTION: A negative electrode solution 3 is made of a pH buffer solution containing microorganisms functioning as an electron donor and comes in contact with a negative electrode 11 to which an electronic mediator is immobilized. A positive electrode solution 4 contains a substance serving as an electron acceptor, and comes in contact with a positive electrode 15. Electrons taken out of microorganisms which produced electric energy are transferred to the negative electrode 11 through the electronic mediator, and transmitted to the positive electrode 15 through a terminal 12, an outer resistance 13, and a terminal 14. By this constitution, a required amount of electronic mediators can always be ensured in the vicinity of the electrode, and efficiency drop caused by diffusion of the electronic mediator into the solution can be prevented. Since electrons received from microorganisms can immediately be transferred to the electrode, current can efficiently be obtained.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開 2000-133297

(P 2000-133297 A)

(43) 公開日 平成12年5月12日(2000. 5. 12)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
H 0 1 M	8/16	H 0 1 M	8/16
// C 1 2 N	1/00	C 1 2 N	1/00
			P

審査請求 未請求 請求項の数 20 OL

(全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平10-310799

(22) 出願日 平成10年10月30日(1998. 10. 30)

(71) 出願人 000001007

キャノン株式会社

東京都大田区下丸子3丁目30番2号

(72) 発明者 川畑 祐司

東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キャノ

ン株式会社内

(74) 代理人 100100893

弁理士 渡辺 勝 (外3名)

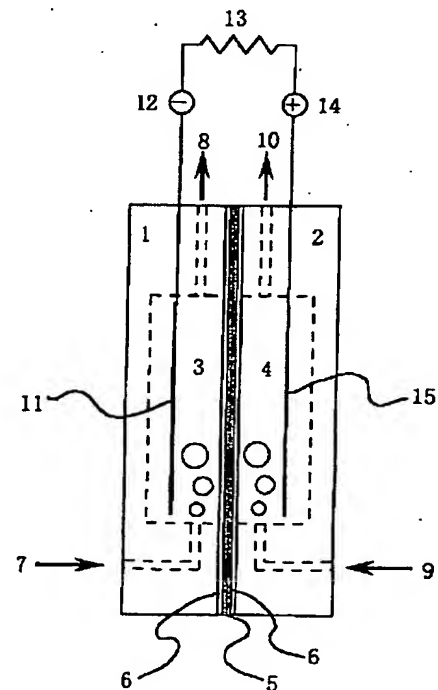
F ターム (参考) 4B065 AA26X BC41 BD34 CA60

(54) 【発明の名称】 生体代謝利用発電方法及び電池、並びにこれらに用いる電子メディエーター固定化電極

(57) 【要約】

【課題】 微生物の代謝を利用した発電における発電効率を高める。

【解決手段】 電子メディエーターが固定化された電極を、微生物との間での電子移動のために用いる。



【特許請求の範囲】

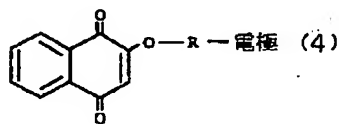
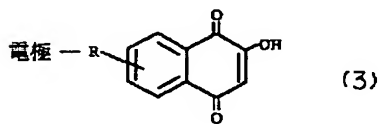
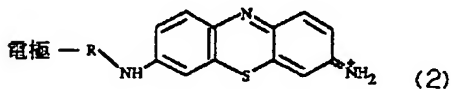
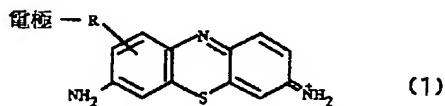
【請求項1】 微生物または細胞と、電極とを用い、これらの間での電子移動が発電に利用される発電方法において、

該電極の表面に、該微生物または細胞と、該電極との間の電子移動を媒介する電子メディエーターが固定化されていることを特徴とする発電方法。

【請求項2】 前記電極が、金、白金または炭素からなる導電性部分を有する請求項1に記載の発電方法。

【請求項3】 前記電極に固定化された電子メディエーターが下記式(1)及び(2)で示される状態で固定化されたチオニン骨格を有する化合物並びに下記式(3)及び(4)で示される状態で固定化された2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノン骨格を有する化合物：

【化1】



(上記式中において、Rは有機直鎖を表わす。)から選ばれた少なくとも1種である請求項1または2に記載の発電方法。

【請求項4】 Rが、炭素数50の飽和または不飽和アルキレン鎖に相当する長さまでの炭化水素直鎖あるいはポリオキシエチレン直鎖である請求項3に記載の発電方法。

【請求項5】 前記微生物または細胞が、電解質溶液中に保持され、該電解質溶液中に前記電極の1以上が設置される請求項1～4のいずれかに記載の発電方法。

【請求項6】 前記微生物または細胞も、前記電子メディエーターが固定された電極に固定化されている請求項1～4のいずれかに記載の発電方法。

【請求項7】 前記微生物または細胞が、電子供与体としての機能を有し、前記電極が該微生物または細胞から

の電子を受けることで負極を構成する請求項1～6のいずれかに記載の発電方法。

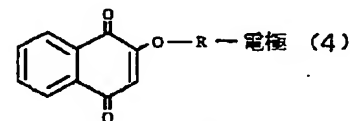
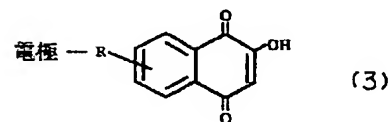
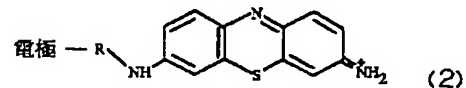
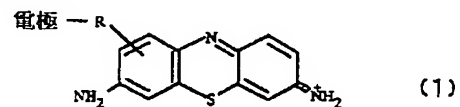
【請求項8】 微生物または細胞と、電極とを有し、これらの間での電子移動が発電に利用される電池であって、

前記電極に前記電子移動を媒介する電子メディエーターが固定化されていることを特徴とする電池。

【請求項9】 前記電極が、金、白金または炭素からなる導電性部分を有する請求項8に記載の電池。

【請求項10】 前記電極に固定化された電子メディエーターが下記式(1)及び(2)で示される状態で固定化されているチオニン骨格を有する化合物並びに下記式(3)及び(4)で示される状態で固定化されている2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノン骨格を有する化合物：

【化2】



(上記式中において、Rは有機直鎖を表わす。)から選ばれた少なくとも1種である請求項8または9に記載の電池。

【請求項11】 Rが、炭素数50の飽和または不飽和アルキレン鎖に相当する長さまでの炭化水素直鎖あるいはポリオキシエチレン直鎖である請求項10に記載の電池。

【請求項12】 前記微生物または細胞が、電解質溶液中に保持され、該電解質溶液中に前記電極の1以上が設置される請求項8～11のいずれかに記載の電池。

【請求項13】 前記微生物または細胞も前記電子メディエーターが固定化された電極に更に固定化されている請求項8～11のいずれかに記載の電池。

【請求項14】 前記微生物または細胞が電子供与体と

しての機能を有し、前記電極が該微生物または細胞からの電子を受けることで負極を構成する請求項8～13のいずれかに記載の電池。

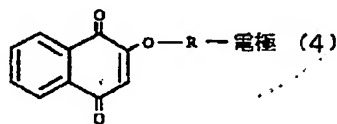
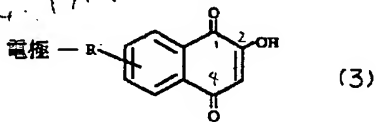
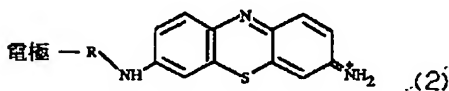
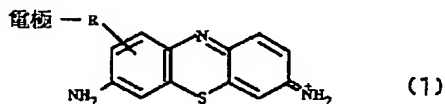
【請求項15】 電極の表面上に、該電極と微生物または細胞との間での電子移動を媒介する電子メディエーターを固定化したことを特徴とする微生物または細胞電池用の電極。

【請求項16】 前記電極が、金、白金または炭素からなる導電性部分を有する請求項15に記載の電極。

【請求項17】 前記電極に固定化された電子メディエーターが下記式(1)及び(2)で示される状態で固定化されたチオニン骨格を有する化合物並びに下記式

(3)及び(4)で示される状態で固定化された2-ヒドロキシ-1,4-ナフトキノン骨格を有する化合物：

【化3】



(上記式中において、Rは有機直鎖を表す。)から選ばれた少なくとも1種である請求項15または16に記載の電極。

【請求項18】 Rが、炭素数50以下の炭化水素直鎖あるいはポリオキシエチレン直鎖である請求項17に記載の電極。

【請求項19】 微生物または細胞が更に固定化されている請求項15～18のいずれかに記載の電極。

【請求項20】 電子供与体である微生物または細胞からの電子を受容する機能を有する負極構成用である請求項15～19のいずれかに記載の電極。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、微生物や細胞の代謝反応を利用した発電方法及び電池、及びこれらに用い

る電子メディエーター固定化電極に関するものである。

【0002】

【従来の技術】電力は機械動力や加熱熱源、あるいは照明などに共通の極めて利用価値の高いエネルギーである。現在、工業用あるいは家庭用の電力のほとんどは火力発電、水力発電および原子力発電により供給されている。しかし、火力発電は化石燃料の燃焼により電力を得るため二酸化炭素の大量排出が起り、自動車などの化石燃料の燃焼過程で排出される二酸化炭素とともに地球規模での温暖化という問題を起している。また、各国の二酸化炭素の排出限度量が決められ、火力発電への依存度を低下せざるをえない状況である。さらに、化石燃料の枯渇が将来懸念されており、火力発電による電力供給は徐々に困難になるものと予想される。

【0003】一方、原子力発電は年々その発電比率を増加させており、産業構造を支える上では不可欠な発電方法となっている。しかし、核燃料の潜在的な危険性とこれを100%安全に制御する技術が未成熟な現状では、電力需要に応じて安易に原子力発電所を設置することも困難である。

【0004】水力発電は水の位置エネルギーを電気エネルギーに変換する方法であるから環境汚染の問題もなく、また潜在的な危険性も極めて低い発電方法である。しかし、発電量が降雨量などの自然条件に左右されやすく、需要に応じて発電量を制御するのは困難である。また、発電用の貯水ダムの建設は山間部を水没させ、河川水を減少させるため、環境汚染とは異なる影響を与えることが懸念される。

【0005】このように大規模発電はそれぞれ課題を抱えているが、その一方で全世界のエネルギー消費は2000年には原油換算で140億kl/年、2100年には2700億kl/年と驚くべき伸び率が予測され、これを補う高効率で低コストな発電方法が模索されている。太陽電池や風力電池、あるいは波力電池などは自然のエネルギーを電気エネルギーに変換するエコロジーな方法であるが、電池そのものの製作にかなりのエネルギーとコストがかかるため、これらを利用した発電の普及には限界があるのが現状である。

【0006】一方、微生物も規模は小さいが内部で効率よく発電を行っている(柳下立夫、燃料及燃焼、第62巻163頁1997年)。例えば、微生物は栄養素を資化し、その化学エネルギーをニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸水素(NADPH)のような酸化還元エネルギー(電気エネルギー)に変換して蓄積する。この電気エネルギーは再び微生物が生育するためのエネルギーに変換されて消費されるが、この電気エネルギーを微生物の外に取り出すことにより電力を得ることができる。

【0007】このような電気エネルギーは、微生物の光合成や呼吸などの代謝反応から得ることができる。光合成は、多くの電子キャリアーから構成される電子伝達系

であり、呼吸は多くの酵素からなる物質伝達系とみることができ。例えば、光合成の電子伝達系では、酸化還元電位の負から正へと電子キャリアーが並んでおり、水の光分解により生じた電子はこれらの電子キャリアーを伝達しながら最後にNADP⁺に渡されて、高い還元力をもつNADPHが生産される。生体内ではこのNADPHを使って二酸化炭素を固定し、酵素反応により炭水化物を産生する。また、呼吸の物質伝達系では、栄養素である炭水化物と水の酵素反応により高い電気エネルギーを生産し、この電気エネルギーを生体内の電子伝達系を使ってアデノシン-3-リン酸という化学エネルギーの形で蓄積する。

【0008】微生物を用いた発電方法は、いずれの場合も、適当な電子メディエーターと微生物を共存させることによって微生物からの電子を負極に取り出す方式を採用するものである。すなわち、電子メディエーターは微生物の中に入り、微生物中に発生した電気エネルギーを電子の形で受け取り、微生物から外に出て、この電子を電極（負極）に渡すことで電流が得られる。このような発電方法では、電子メディエーターが微生物の電子伝達系から直接電子を取り出すため、その理論エネルギー変換効率は光合成系では20%以上、呼吸系では90%以上にもなる。従って、極めて高効率の発電方法となりうる。現在のところ、電子メディエーターや用いる微生物にまだ問題がありエネルギー変換効率は3%程度（柳下立夫ら、資源と環境、第4巻9頁1994年）であるが、微生物栄養素に産業廃棄物や排水中の有機物を用いることができれば、環境浄化とともにエネルギー生産を行うことが可能となり、極めて有望な発電方法となる。

【0009】これまで研究されてきた微生物代謝を利用する発電方法は、陽イオン交換膜を挟んだ2つの電極槽のそれぞれに電極を設置し、負極側に微生物と電子メディエーターを、正極側に酸化還元試薬を溶解して電池を構成するものである（G. M. Delaney et al., J. Chem. Tech. Biotechnol. 1984, 34B, 13）。大腸菌などの微生物に対する電子メディエーターとしては、ブリリアントクレジルブルー、ガロシアン、レソルフィン、チオニン、ジメチルジスルホン化チオニン、ニューメチレンブルー、トルイジンブルー-O、アリザリンブリリアントブルー、フェノチアジン、フェナジエンスルフェート、サフラニン-O、ジクロロフェノールインドフェノール、あるいはベンジルピオローゲンなどが用いられている。また、藍藻などの微生物については、ヒドロキシアフトキノンが有効であることが報告（Tanaka et al., J. Chem. Tech. Biotechnol., 1985, 35B, 191）されている。いずれも電極槽内に電子メディエーターを均一に溶解して、電子メディエーターを介して微生物と電極間で電子の授受を行うものである。

【0010】特開平6-350119号公報では、太陽電池と微生物発電を組み合わせた効率的な光エネルギー変換装置

が提案されている。この方法では、太陽の照射時に太陽電池で発電するとともに、太陽電池で利用されなかった光により藻を一定時間培養し、藻に蓄積された炭水化物によりさらに発電を行うものである。この装置においても電子メディエーターは藻培養槽に均一に溶解されている。

【0011】また、USP4085254では好気性あるいは嫌気性細菌を電解水に懸濁させて、これに電極を浸漬して電気を得る方法が述べられている。この方法では、メディエーターは使用されておらず、微生物から直接電極へ電子を移動させる構成となっている。さらに、USP4117202では光照射により生じたNADHを酵素系の電子メディエーターの酵素反応を通して電流を得る方法が、また、USP4652501では微生物に電子メディエーターを加えて、微生物を飢餓状態にすることによって効率よく電流を取り出す方法が提案されている。さらに、USP5393615ではアクリジン-2-オン誘導体やオキサゼピン-8-オン誘導体が優れた電子メディエーターとなることが述べられている。これらの方法では、いずれも電子メディエーターは微生物培養液に溶解させた状態で使用されている。

【0012】一方、USP4655885では、電子メディエーター（ピリジン誘導体）を電極上に固定して、酵素や蛋白質と電極の間で電子の収受を行う方法が提案されている。しかし、微生物内部から電気エネルギーを取り出すには電子メディエーターが細胞膜を透過する必要があり、酵素や蛋白質に対して直接電子のやりとりを行う方法とは違った技術思想が必要となる。

【0013】また、特開平6-285138号公報には、電子メディエーター（フェロセン誘導体）を電極に担持させ微生物を電気化学的に制御する方法が述べられている。USP4138784では酵素蛋白質における酸化還元反応を外部から印加する電位により制御する方法も述べられている。しかし、これらの方法は、電極を通して外部より微生物に電位を印加し、微生物中の電子伝達を促進させるものであって、微生物の代謝反応そのものを利用して発電するものとは全く異なっている。

【0014】

【発明が解決しようとする課題】微生物の代謝反応を用いた発電方法は極めて効率が高く、また排水処理などと組み合わせるとエコロジ的な付加価値も高い方法である。しかし、電極材料や電子メディエーター、あるいは微生物を探索してエネルギー変換効率を増大させても、1個の微生物から取り出せる電子量には限界があり、また、電子メディエーターを使って過剰に電子を取り出すと生命を維持するためのエネルギーが不足し、微生物が死滅してしまう場合もある。従って、実用的レベルまで電力を取り出すには、微生物数を増大させて大型の電極槽を用いることが必要となる。

【0015】この場合、適当な培養条件を整えてやれば微生物は自発的に増殖するので大型電極槽の利用も問題

はないが、十分な濃度でしかも均一に溶解させるには大量の電子メディエーターが必要となり、発電コストを上昇させる一因となる。また、電子メディエーターを介した微生物と電極との間での電子移動経路内において、酸素などの酸化物質との反応する機会があると、この酸化物質によって電子メディエーターが酸化されて電子がトラップされてしまう。

【0016】本発明はかかる問題に鑑みなされたものであり、電子メディエーターと電極との間での電子の収受が速やかに行われ、電子メディエーターの使用量を少なくし、更には酸化による電子トラップの機会を減少させて、発電コストを低減させるとともに、発電効率の向上を図ることのできる構造を有する微生物や細胞を利用した発電方法及び電池、並びにこれらに用いる電子メディエーター固定化電極を提供することをその目的とする。

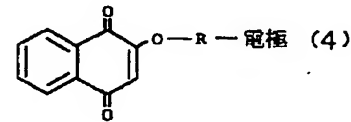
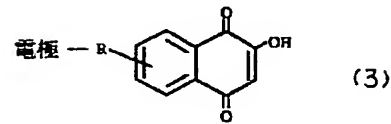
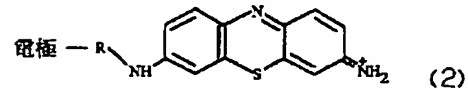
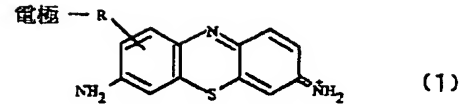
【0017】

【課題を解決するための手段】本発明の発電方法は、微生物または細胞と、電極とを用い、これらの間での電子移動が発電に利用される発電方法において、該電極の表面に、該微生物または細胞と、該電極と、の間の電子移動を媒介する電子メディエーターが固定化されていることを特徴とする。また、本発明の微生物または細胞と、電極とを有し、これらの間での電子移動が発電に利用される電池であって、前記電極に前記電子移動を媒介する電子メディエーターが固定化されていることを特徴とする。更に、これらの方法及び電池に用いる電極は、電極の表面上に、該電極と微生物または細胞との間での電子移動を媒介する電子メディエーターを固定化したことを特徴とする。

【0018】すなわち、本発明は、微生物の代謝反応を利用した発電方法において、微生物または細胞と電極との間における電子移動を媒介する電子メディエーターを電極に固定することにより、電極溶液中での電子メディエーターの拡散が律速にならないようにし、電子メディエーターと電極との間での電子の収受が速やかに起るようになり、電子メディエーターの使用量を低減し、かつ高効率での電流発生が可能となるとの新たな知見に基づいてなされたものである。特に、金、白金または黒鉛質の炭素からなる電極に対して、電子メディエーターが以下の式（1）及び（2）で示される状態で固定化されたチオニン骨格を有する化合物、あるいは以下の式（3）及び（4）で示される状態で固定化された2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノン骨格を有する化合物を用い、かつ適当な分子長のスペーサーを介してこれらの電子メディエーターを電極に固定することで、より高効率な発電が可能となるという新たな知見に基づくものである。

【0019】

【化4】



【0020】

【発明の実施の形態】本発明においては、微生物または細胞との間での電子移動に用いる電極として、電子メディエーターが固定された電極が用いられる。この電子メディエーター固定電極は、電子を発生させる側（負極）及び電子を受容する側（陽極）の少なくとも一方に用いることができ、負極側に用いるのが好ましい。

【0021】負極側に用いられる微生物または細胞は、電子メディエーターを介して電子を電極に供与する電子供与体としての機能を有するものであればよく、これとは逆に、陽極側に用いられる微生物または細胞は電極からの電子を電子メディエーターを介して取り込む電子受容体としての機能を有するものであればよい。

【0022】電子供与体として用いる、すなわち電気エネルギーを産生する微生物としては、電子供与体としての機能を有するものであれば、特に制限されない。例えば、Saccharomyces、Hansenula、Candida、Micrococcus、Staphylococcus、Streptococcus、Leuconostoc、Lactobacillus、Cornebacterium、Arthrobacter、Bacillus、Clostridium、Neisseria、Escherichia、Enterobacter、Serratia、Achromobacter、Alcaligenes、Flavobacterium、Acetobacter、Moraxella、Nitrosomonas、Nitrobacter、Thiobacillus、Gluconobacter、Pseudomonas、Xanthomonas、Vibrio、Comamonas及びProteus (Proteus vulgaris) の各属に属する細菌、糸状菌、酵母などの微生物を挙げることができる。また、より高い電子供与能力および電子受容能力をもつ微生物を人為的な変異や遺伝子操作などにより作製し、利用しても構わない。更に、Synechococcus sp.、Anebaena variabilis等の藻類、原生動物、赤血球、白血球、腫瘍細胞、培養細胞、

動植物細胞などの各種細胞を用いることもできる。

【0023】また、本発明において使用される電極としては、導電性部分が、金、白金、あるいは炭素（黒鉛質）のほか、鉄やアルミニウムなどの各種導電性金属、ポリアセチレンなどのような導電性高分子、イオン伝導体のような導電性無機材料、あるいは各種半導体材料などの電極を構成し得る材料からなるものを挙げることができる。電極表面には、必要に応じて、電子メディエーターを固定しやすいように、プラズマなどの表面処理を予め施すこともできる。

【0024】電極の表面に固定化される電子メディエーターとしては、例えば、先に挙げた式（1）及び（2）で示される状態で固定化が可能なチオニン骨格を有する化合物、式（3）及び（4）で示される状態で固定化が可能な2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノ骨格を有する化合物、ブリリアントクレジルブルー、ガロシアニン、レソルフィン、チオニン、ジメチルジスルホン化チオニン、ニューメチレンブルー、トルイジンブルー、アリザリンブリリアントブルー、フェノチアジノン、フェナジンエソスルフェート、サフラニン-O、ジクロロフェノールインドフェノール、フェロセン、ベンゾキノ、フタロシアニン、あるいはベンジルピオローゲンおよびこれらの誘導体などを挙げることができる。

これらの電子メディエーターは本発明の効果を損なわない範囲内でその2種以上を組み合わせ用いることもできる。これらの中では、式（1）及び（2）で示されるチオニン骨格を有する化合物、式（3）及び（4）で示される2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノ骨格を有する化合物が好ましい。

【0025】電子メディエーターの電極への固定化方法は、電極の電子メディエーターが固定される表面を構成する材料及び電子メディエーターの種類等に応じて選択することができ、例えば、電極表面の原子や分子に、電子メディエーターをその機能を損なわないように共有結合により結合させて固定化する方法等が利用できる。

【0026】電子メディエーターの種類によっては、電極表面と電子メディエーターとの距離を好適な範囲として微生物や細胞内に固定化された電子メディエーターがより効果的に作用するようにスペーサー分子を介して電極表面に固定するのが好ましい。例えば、上記の式

（1）～（4）で示される化合物を用いた場合には、有機化合物、例えば炭化水素直鎖やポリオキシエチレン直鎖等の炭素を主体とした有機直鎖で、その長さが、炭素原子が直列した場合の炭素数50（ $n=50$ ）、すなわち炭素数50の飽和または不飽和のアルキレン鎖に相当する長さまでの、好ましくは3以上の長さものをスペーサーとして用いることができる。

【0027】電極と接触し、かつ微生物または細胞を保持する溶液としては、微生物または細胞を保持し、かつ発電に必要な組成を有する溶液を用いることができる。

例えば、負極側で呼吸系の発電を行う場合は、負極側の溶液としては、ブイオン培地、M9培地、L培地、Malt Extract、MY培地、硝化菌選択培地などの呼吸系の代謝を行うのに必要なエネルギー源や栄養素などの組成を有する培地が利用できる。また、光合成系の発電では、微生物が光合成を行うことができる状態で維持され、あるいは生育し、かつ二酸化炭素を溶液に十分に供給し、溶解させることができるような組成を有する、例えばpH緩衝溶液をベースとする培地を用いることができる。さらに、微生物の発電機能を増大させるような材料、例えばビタミンCのような抗酸化剤や、微生物中の特定の電子伝達系や物質伝達系のみを働かせる機能増大材料を溶解すると、さらに効率よく電力を得ることができるので好ましい。

【0028】一方、正極側に電子受容体としての微生物または細胞を配置しても良く、例えば、*Thiobacillus ferrooxidans*等の電子を受容して二酸化炭素固定を行う微生物等が利用できる。この場合に正極側溶液には、二酸化炭素と酸素、およびミネラル成分などがあればよい。正極側で有機物を資化する場合は、資化用の原料及び資化のために必要な適当な栄養素等を含む培地を用いることができる。

【0029】更に、微生物や細胞を電子メディエーターを固定した電極の表面に更に固定することもできる。このように電子メディエーターを固定した電極表面に更に微生物または細胞を固定することで、電極槽全体で微生物や細胞を培養する必要がなくなり、また微生物と電子メディエーターとの配置についても近接位置が常に維持されるようになり、更に低コストでの高効率な発電が可能となる。

【0030】電極への微生物または細胞の固定は、常法により行うことができる。例えば、でんぷん、寒天、キチン、キトサン、ポリビニルアルコール、アルギン酸、ポリアクリルアミド、カラギーナン、アガロース、ゼラチンなどのゲル状担体層を電極表面に形成し、このゲル状担体中に微生物または細胞を固定化する方法等を用いることができる。

【0031】本発明の発電方法は、電子メディエーターを電極に固定化して用いることを除けば、従来公知のあらゆる電気化学的手法あるいは微生物電池と組み合わせることができる。

【0032】以下、添付図面に基づいて本発明に使用できる微生物発電方法および発電装置（電池）を説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0033】図1は本発明の微生物発電装置の一例である。この発電装置は負極槽1と正極槽2からなる電極槽を有している。負極溶液3は電子供与体として機能し得る微生物を含んだpH緩衝液からなり、電子メディエーターが固定された負極11と接している。正極溶液4は電子受容体となり得る物質を含み、正極15に接してい

る。両溶液は陽イオン交換膜 5 で隔てられており、溶液が電極槽からもれないようにシリコンゴム 6 を用いて負極槽 1 と正極槽 2 を挟み込んでいる。負極槽 1 では、電子メディエーターが酸化されることを防止するためにガスインレット 7 より窒素等の酸素を追い出す効果が得られる気体を通気し、アウトレット 8 から排気を行う。また、正極槽 2 では、インレット 9 より必要に応じて各種ガスが通気され、その際の排気はアウトレット 10 を介して行われる。例えば、酸素を電子移動の媒体として用いる場合は、酸素を含む気体、例えば空気が、また、正極層で微生物による二酸化炭素の固定を行う場合は少なくとも二酸化炭素を含む気体が導入される。

【0034】負極 11 に固定化された電子メディエーターを介して電気エネルギーを生産した微生物より取り出された電子は負極 11 へ渡され、端子 12 へと引き出される。この電子は外部抵抗 13 を通り、端子 14 から正極 15 へと伝達される。なお、発電機能を説明するために外部抵抗 13 を示しているが、この外部抵抗の位置において発電された電気が種々の目的で利用される。一方、正極層 2 では、正極溶液中に酸素を溶解させた場合は、その溶存酸素に電子が引き渡されて酸素自身は還元され、水酸イオンあるいは水を生じる。更に、陽イオン交換膜 5 中のナトリウムイオンの移動により全体として閉回路が構成される。このとき、電池の内部抵抗を小さくするために各溶液 3、4 の抵抗および陽イオン交換膜 5 の電気抵抗を小さくするために、電極 11、15 を陽イオン交換膜 5 の近傍に配置するとともに、陽イオン交換膜 5 の面積を大きくしてその厚みを薄くすることが好ましい。

【0035】上記の構成によれば、必要量の電子メディエーターを電極近傍に常に確保することができ、電子メディエーターの溶液中への拡散による効率の低下を防止し、しかも微生物から受け取った電子を直ちに電極に移動させることができるため、酸化成分などによる電子のトラップが起りにくく、高効率で電流を得ることができる。

【0036】なお、電極表面に固定化された電子メディエーターの表面密度が低過ぎると、単位時間あたりに得られる電子量（つまり電流）が低下し、また高過ぎると微生物または細胞との静電的な反発や吸着が起きる場合があるので、適当な表面密度に調整するのが好ましい。

【0037】

【実施例】以下、実施例により本発明を詳述するが、これらは本発明をなんら限定するものではない。

【0038】実施例 1

（チオニン誘導体の炭素電極への固定と微生物による発電）炭素電極（日本カーボン社製、GF-20、5 cm × 5 cm、厚さ 0.7 mm）をプラズマ中で酸化処理し、電極表面に水酸基を導入した。次に、この電極を 3-アミノプロピルトリエトキシシラン（信越化学）で処

理し、電極表面にアミノ基を導入した。さらに、このアミノ基と 1, 10-デカンジカルボン酸（和光純薬）の一端を 1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（同仁化学）で脱水縮合した。残ったカルボキシル基とチオニンのアミノ基を更に脱水縮合して、炭素電極上にチオニンを固定した。

【0039】内容積 80 ml の直方体状の槽（アクリル製）を、所定の一面を開口状態として 2 個用意し、電極等の必要構成部品を設置して、開口部を対向させて、これらによって陽イオン交換膜（旭化成製、K511）を挟み込んで固定し、図 1 に示す構成の発電装置を作製した。アノード電極として上記の操作で得たチオニン固定化炭素電極を、カソード電極として炭素電極（日本カーボン社製、GF-20、5 cm × 5 cm、厚さ 0.7 mm）をそれぞれ用いた。

【0040】アノード電極槽に、10 mg/ml の E. coli（乾燥重量基準）及び 10 μM のグルコース（和光純薬）を含む 0.1 M リン酸緩衝液（pH 7）を満たし、窒素ガスを毎分 200 ml の流量で送って溶液内に溶解している酸素を除去した。また、カソード電極槽には 0.1 M フェリシアン化カリウムを含む 0.1 M リン酸緩衝液（pH 7）を満たした。

【0041】アノード電極とカソード電極の間に 500 Ω の抵抗を入れ、抵抗両端の電圧を経時的に測定した。その結果、発電開始から数時間にわたっておよそ 0.1 V の起電力が得られた。このことから、電子メディエーターを電極表面に固定することにより微生物から安定して電流が得られることがわかった。

【0042】また、炭素数 50 以下の鎖長の異なるスペーサーを用いても同様な結果が得られた。

【0043】実施例 2

（チオニン誘導体の金属極への固定と微生物による発電）金からなる平板電極（5 cm × 5 cm、厚さ 0.1 mm）をプラズマ中で酸化処理し、電極表面に水酸基を導入した。次に、この電極を 3-アミノプロピルトリエトキシシラン（信越化学）で処理し、電極表面にアミノ基を導入した。さらに、このアミノ基と 1, 10-デカンジカルボン酸（和光純薬）の一端を 1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（同仁化学）で脱水縮合した。残ったカルボキシル基とチオニンのアミノ基を更に脱水縮合して、炭素電極上にチオニンを固定した。

【0044】内容積 80 ml の直方体状の槽（アクリル製）を、所定の一面を開口状態として 2 個用意し、電極等の必要構成部品を設置して、開口部を対向させて、これらによって陽イオン交換膜（旭化成製、K511）を挟み込んで固定し、図 1 に示す構成の発電装置を作製した。アノード電極として上記の操作で得たチオニン固定化炭素電極を、カソード電極として炭素電極（日本カーボン社製、GF-20、5 cm × 5 cm、厚さ 0.7 mm）

m) をそれぞれ用いた。

【0045】アノード電極槽に、10mg/mlのE. coli (乾燥重量基準) 及び10μMのグルコース (和光純薬) を含む0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) を満たし、窒素ガスを毎分200mlの流量で送って溶液内に溶解している酸素を除去した。また、カソード電極槽には0.1Mフェリシアン化カリウムを含む0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) で満たした。

【0046】アノード電極とカソード電極の間に500Ωの抵抗を入れ、抵抗両端の電圧を経時的に測定した。その結果、発電開始から数時間にわたっておよそ0.08Vの起電力が得られた。このことから、電子メディエーターを電極表面に固定することにより微生物から安定して電流を得られることがわかった。

【0047】また、炭素数50以下の鎖長の異なるスペーサーを用いても同様な結果が得られた。

【0048】実施例3

(2-ヒドロキシー-1, 4-ナフトキノン誘導体の固定と微生物による発電) まず、実施例1と同様にして、炭素電極をプラズマ処理し、更に3-アミノプロピルトリエトキシシランで処理し、アミノ基が表面に導入された電極を得た。次に、1, 10-デカンジカルボン酸をテトラヒドロフランに溶解し、リチウムアルミニウムハイドレート (和光純薬) で還元して、一方のカルボキシル基を水酸基に変え、カラムクロマトにより精製した。更に、精製した化合物と上記の操作で表面処理を施した炭素電極を1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩で脱水縮合し、炭素電極表面に長鎖アルコールを固定した。最後に、電極に固定されたこの長鎖アルコールと2-ヒドロキシー-1, 4-ナフトキノン (和光純薬) をp-トルエンスルホン酸クロリドと水酸化ナトリウムで脱水縮合させて、炭素電極上にナフトキノンを固定した。

【0049】実施例1と同様に、内容積40mlの電極槽2個で陽イオン交換膜を挟んだ構成の発電装置を作製した。アノード電極としては上記の操作で得られた1, 4-ナフトキノン固定化炭素電極を、カソード電極としては炭素電極 (日本カーボン社製、GF-20、5cm×5cm、厚さ0.7mm) をそれぞれ用いた。

【0050】アノード電極槽に、10mg/mlのSynechococcus sp. (乾燥重量基準) を含む0.05Mリン酸緩衝液 (pH8) を満たし、0.5%の二酸化炭素を含む窒素ガスを毎分200mlの流量で送って溶液内に溶解している酸素を除去した。また、カソード電極槽には0.1Mフェリシアン化カリウムを含む0.05Mリン酸緩衝液 (pH8) で満たした。更に、500Wのランプ (光強度15μE・m⁻²・s⁻¹) でアノード電極層内の微生物を照射した。

【0051】この状態で、アノード電極とカソード電極の間に500Ωの抵抗を入れ、抵抗両端の電圧を経時的

に測定した。その結果、発電開始から数時間にわたっておよそ0.05Vの起電力が得られた。このことから、電子メディエーターを電極表面に固定することにより微生物から安定して電流を得られることがわかった。

【0052】また、炭素数50以下の鎖長の異なるスペーサーを用いても同様な結果が得られた。

【0053】実施例4

(オキシエチレン鎖によるチオニン誘導体の炭素電極への固定と微生物による発電) 実施例1と同様にして、炭素電極をプラズマ処理し、さらに3-アミノプロピルトリエトキシシランで処理し、表面にアミノ基が導入された電極を得た。このアミノ基とポリ (オキシエチレン) ジグリコール酸 (和光純薬、分子量1000、炭素数およそ44) の一端を1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩で脱水縮合した。残ったカルボキシル基とチオニンのアミノ基を更に脱水縮合して、炭素電極上にチオニンを固定した。

【0054】実施例1と同様に、内容積40mlの電極槽2個で陽イオン交換膜を挟んだ発電装置を作製した。アノード電極としては上記の操作で得たチオニン固定化炭素電極を、カソード電極としては炭素電極 (日本カーボン社製、GF-20、5cm×5cm、厚さ0.7mm) をそれぞれ用いた。

【0055】アノード電極槽に、10mg/mlのE. coli (乾燥重量基準) 及び10μMのグルコース (和光純薬) を含む0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) を満たし、窒素ガスを毎分200mlの流量で送って溶液内に溶解している酸素を除去した。また、カソード電極槽には0.1Mフェリシアン化カリウムを含む0.1Mリン酸緩衝液 (pH7) で満たした。

【0056】アノード電極とカソード電極の間に500Ωの抵抗を入れ、抵抗両端の電圧を経時的に測定した。その結果、発電開始から数時間にわたっておよそ0.06Vの起電力が得られた。このことから、電子メディエーターを電極表面に固定することにより微生物から安定して電流を得られることがわかった。

【0057】

【発明の効果】本発明によれば、微生物や細胞との間で電子移動を行う電極に電子メディエーターを固定化したことで、電子メディエーターを溶液に溶解させた場合における拡散を防止し、更に、微生物または細胞と電極との間をより近接させた電子移動が可能となり、電子が酸化物質等にトラップされる可能性を低減させることで、電子メディエーターの使用量を減らし、かつ高効率での発電が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の電池の構成の一例を示す図である。

【符号の説明】

- 1 負極槽
- 2 正極槽

- 3 負極溶液
- 4 正極溶液
- 5 陽イオン交換膜
- 6 シリコンゴム
- 7 負極側ガスインレット
- 8 負極側ガスアウトレット
- 9 正極側ガスインレット

- 10 正極側ガスアウトレット
- 11 負極
- 12 負端子
- 13 外部抵抗
- 14 正端子
- 15 正極

【図 1】

